

⑫ 公開特許公報(A)

平2-272081

⑬ Int. Cl.³

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成2年(1990)11月6日

C 09 K 3/00
 B 01 F 17/20
 17/22
 C 07 C 381/12
 C 12 N 11/02
 G 01 N 27/333
 33/543
 33/544

L 6779-4H
 6345-4G
 6345-4G
 7419-4H
 7329-4B

 Q 7906-2G
 Z 7906-2G
 7363-2G

G 01 N 27/30 3 3 1 A

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全8頁)

⑮ 発明の名称 機能性有機薄膜

⑯ 特 願 平1-94670

⑰ 出 願 平1(1989)4月14日

⑱ 発 明 者 宮 坂 力 神奈川県南足柄市中沼210番地 富士写真フイルム株式会社内

⑲ 出 願 人 富士写真フイルム株式 神奈川県南足柄市中沼210番地
会社

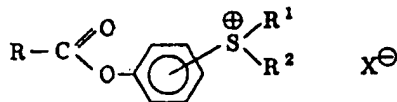
明 細 書

1. 発明の名称 機能性有機薄膜

2. 特許請求の範囲

両親媒性の有機分子から成る単分子膜もしくは累積膜に於いて、該両親媒性有機分子の少なくとも一種が下記的一般式(Ⅰ)で示される活性エステル誘導体であることを特徴とする機能性有機薄膜。

(Ⅰ)



(ここで、Rは炭素数13以上の脂肪族基を表わし、R¹、R²は同じでも異なつてもよくそれぞれアルキル基を表わし、X[⊖]はアニオンを表わす。)

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は反応活性な官能基を有する有機分子によつて構成される有機超薄膜に関するものであり、特に感光色素、酸化還元化合物、生物活性蛋白などの各種機能性化合物を化学結合によつて薄膜上に高密度に固定

する機能をもつた有機薄膜およびこれら機能性化合物が固定されて成る機能性有機薄膜に関するものである。

〔従来の技術〕

ラングミュア・ブロッジエツト(Langmuir Blodgett)法(以下LB法という)等によつて作成した単分子膜(monolayer)および累積膜(multilayer)は、有機分子が一次元的配向を持ち且つ高密度に充填された超薄膜という性質を有し、この性質がもたらす特徴的な機能が広い分野で利用されている。

単分子膜形成に適した化合物は、親水性基と疎水性基を分子中に同時に持つ両親媒性の界面活性型化合物である。このような化合物を揮発性有機溶液から水面上に展開した後適当な表面圧力に圧縮する操作により、親水性基を水面下に向け疎水性基を水面上に向けた状態で分子が配向し最密にパッキングされた単分子膜を形成することができる。分子全体が疎水性の不溶性化合物では分子配向が不良なために凝集を引き起こしやすく、単分子膜

として安定な表面圧力を与えることは難かしい。

従つて、単分子膜形成用化合物の分子設計は親水性、疎水性のバランスのとれた水に不溶で且つ不揮発性の化合物を提供することが第一に必要となる。

このように分子配向をもつた単分子膜では膜表面がすべて特定の親水基もしくは疎水基の群で占められている点が配向をもたないキャスト膜等と大きく異なる特徴である。この特徴によつて単分子膜は親水性もしくは疎水性の表面をもつた基板上に層ずつ被覆し累積していくことが可能となり、こうしてできる基板上の累積膜も最上層の表面が特定の親水基もしくは疎水基の群で占められることになる。従つて、分子中の親水基もしくは疎水基に特定の機能をもつた官能基を含むような有機分子を用いるならば、累積膜の表面にこの官能基を向けて分子が高密度に配列した機能性有機超薄膜を得ることができる。

このような機能性有機超薄膜は通常、分子もしくは官能基の表面密度が1単分子層当たり 10^{13}

$\sim 10^{15}$ 分子/cm²に達し、膜の厚さを20~30 Å程度の単位で任意に制御することができる点が特徴である。

〔発明が解決しようとする問題点〕

このような性質をもつ有機薄膜の表面あるいはその内部に、両親媒性有機化合物の親水基、疎水基あるいは官能基との相互作用を利用して異種の機能性化合物(以下、ゲスト化合物と称す)を担持し、ゲスト化合物の有する種々の機能を薄膜に賦与する試みがなされている。

その最も簡単な方法は、異分子であるゲスト化合物を膜形成に先だつて単分子膜形成化合物(ホスト化合物と称す)と適当な展開溶媒中で混合し、水面上に展開してホスト分子を含む混合単分子膜を形成しこれを基板上に被覆する方法であり、あるいはホスト化合物の単分子膜を基板上に被覆した後、その上にゲスト化合物の単分子膜を重ねて被覆する方法である。

このような例は、たとえばドナー分子とアクセプター分子を組合せて電子やエネルギーの移動の

方向制御を利用した研究が、H. クーン(H. Kuhn)著、プロシーディング オブ インターナショナル シンポジウム オン フューチャー エレクトロン デバイス(Proceeding of International Symposium on Future Electron Devices)、1頁、1985年などに紹介されている。しかしながら、この場合ゲスト化合物は通常ホスト化合物と同様に膜形成可能な水に難溶性化合物であることが要求されるため、ゲスト化合物の種類は限られてしまう。またホスト化合物と共に展開する場合はホストとゲストの両者に有用な溶媒を選択する必要が生じるが、この溶媒選択は必ずしも容易でない。さらに、ゲスト化合物をホスト化合物の単分子膜中に埋め込んだ混合単分子膜においては、ゲスト化合物がホスト分子をスペーサーとして挿入される形をとるため、ゲスト分子の表面濃度が低い値に制限されるといつた問題が伴う。

他の1つの方法は、予め水面上もしくは基板表面上に形成したホスト分子の単分子膜に対し、水

溶液中からゲスト分子を供給して吸着もしくは錯合によつてゲスト分子を単分子膜表面上あるいは単分子膜中にとり込ませる方法である。

このときゲスト分子の吸着や錯合は一般に疎水結合力や静電引力によつて促進され、吸着または錯合の平衡状態が達成される。この方法によつて、酵素などの生物活性蛋白をゲスト分子として脂肪酸やエステルなどのホスト単分子膜中に吸着担持させる方法がフロムヘルツ(Fromherz)らによつて、たとえばFEBS Letters、第49巻、329頁、1975年に開示された。

また、この方法を利用し、生体蛋白質を吸着させた単分子膜をLB法により基板上に被覆した例が、特開昭60-251930号(FR-8407213)に述べられている。しかしながら、これらの吸着法あるいは錯体形成法によつて機能性ゲスト分子を担持させて作成した単分子膜においては、ゲスト分子が吸着もしくは錯合の化学平衡を介して担持されているために水洗等によつて離脱してしまうという問題点を有している。また、

この方法ではゲスト分子の機能性基が単分子膜表面でランダムな方向に固定されたり、あるいは単分子膜を構成するホスト分子の間に埋没するなどの結果、ゲスト分子の機能が十分に発揮されないといった可能性を含んでいる。

〔本発明の目的〕

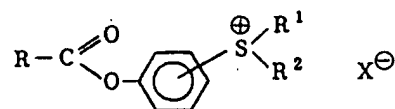
したがって、本発明の目的は、第1に機能性のゲスト分子を化学結合によつて高密度に薄膜表面に固定できるような反応性の単分子膜もしくは累積膜を提供することであり、ゲスト分子との結合反応に有用な反応活性な官能基を膜表面に高密度にかつ均一に有する単分子膜もしくは累積膜を提供することである。第2には、このような反応活性な単分子膜もしくは累積膜の表面に生物活性蛋白などの水溶性の機能性ゲスト化合物が高密度に化学結合した機能性有機薄膜を提供することである。

〔問題解決の手段〕

本発明の目的は、両親媒性の有機分子から成る単分子膜もしくは累積膜に於いて、該両親媒性有機

分子の少くとも1種が下記的一般式(1)で示される活性エステル誘導体であることを特徴とする機能性有機薄膜

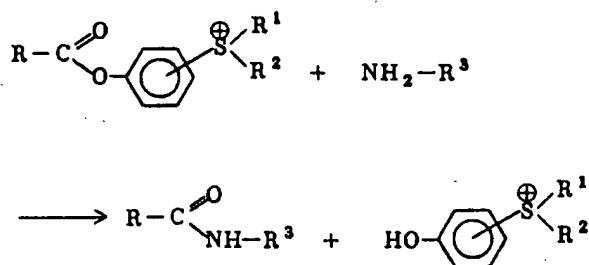
(1)



(ここで、Rは炭素数13以上の脂肪族基を表わし、R¹、R²は同じでも異なつてもよく、それぞれアルキル基を表わし、X⁻はアニオンを表わす。)

によつて解決することができた。

本発明の両親媒性化合物はフェニルスルホニウム塩のエステルを反応活性基として分子の親水性末端に有し、特にアシル化試薬として、一級アミノ基を有する化合物と効率よく反応してこれを結合し固定することができる。以下に、反応の様式を示す。



(ここでNH₂-R³は一級アミノ基を有する化合物を表わす)。

一般式(1)のRの炭素数13以上の脂肪族基としては直鎖状もしくは分枝状のアルキル基またはフルオロアルキル基が好ましい。このアルキル基またはフルオロアルキル基は鎖中に不飽和結合

(二重結合もしくは三重結合)、 $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-$ 、

$\text{>N}-$ 、 $\text{>N}-\text{C}(=\text{O})-$ などの連結基を含んでいてもよい。好ましい炭素数の上限は60、特に50である。

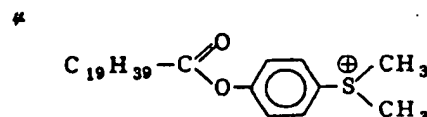
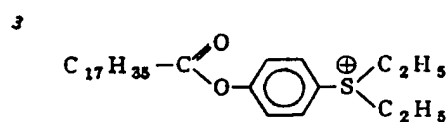
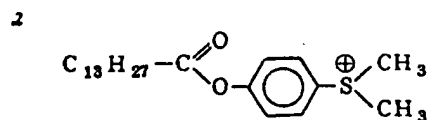
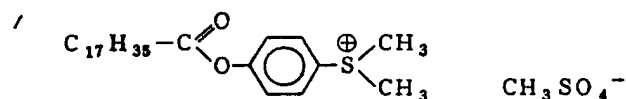
R¹、R²のアルキル基としては低級アルキル

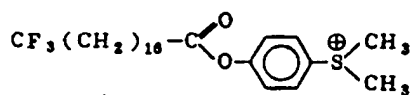
基が好ましく、特にメチル基が好ましい。

X⁻のアニオンには特に制限はなく、ハロゲンイオン、硫酸根、硝酸根などのいずれでもよい。

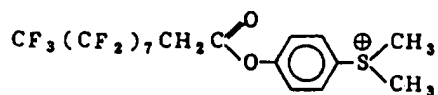
以下に本発明の一般式(1)の化合物の具体例を示すが、本発明はこれによつて限定されるものではない。

化合物例

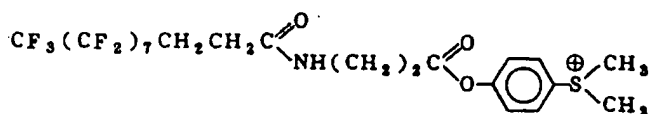




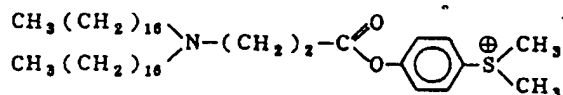
6



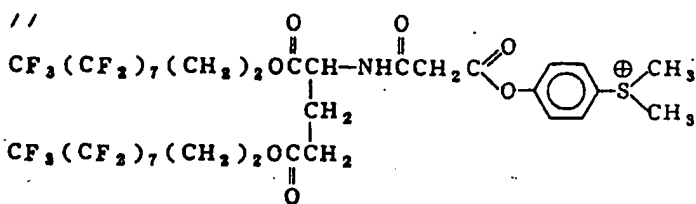
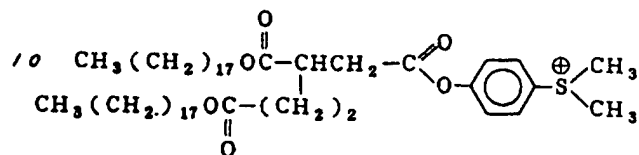
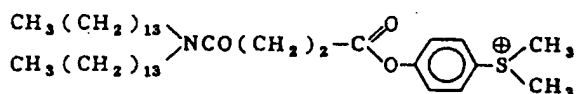
7



8



9



これらの化合物は特開昭63-8363号及び同63-8366号に記載される方法をもとにして合成することができる。

本発明のこれらの化合物の一部（特に化合物2）は水溶性を有し、単独では安定な表面圧力を有する単分子膜を形成することが難かしいが、これらは水に不溶で且つ反応不活性な両親媒性化合物、例えば脂肪酸や脂肪酸メチルエステルなど、と混合して用いることにより比較的安定な単分子膜を

形成し、基板上に累積することが可能である。単分子膜形成能力の点で好ましい化合物は、一般式（I）においてアルキル鎖Rの炭素数が19以上であるかあるいは化合物5〜7に示されるようにフルオロアルキル鎖を有するものであり、もしくは、化合物8〜10に示されるように2本鎖の長鎖アルキルを有するものである。

本発明に使用する単分子膜用展開溶媒としては、クロロホルム、ジクロロメタン、ベンゼン、トルエン、エーテルなどの常用の揮発性非極性有機溶媒の他、これらとアルコール、水などの極性親水性溶媒との混合物も用いられる。

本発明の単分子膜と反応させる機能性化合物を含む水相のpHは6〜10の範囲に保つことが好ましく、8〜10の範囲に保つことが特に好ましい。又、水相の温度は10℃〜40℃の範囲が好ましい。

本発明のスルホニウム化合物（以下、ホスト化合物と称す）の単分子膜あるいは累積膜に対し異種の水溶性機能性ゲスト化合物を化学結合させる

ためには、2つの方法が用いられる。

1つは予め水面上に形成したホスト化合物の単分子膜に対し、水相中にゲスト化合物を添加するか、あるいは単分子膜をゲスト化合物の溶解した第2の水相上に移すことによつて、単分子膜と水相の界面において結合反応を行わせる方法である。この場合ゲスト化合物の水相中の濃度は 10^{-6} から 10^{-3} Mの範囲とすることが好ましい。また結合反応における単分子膜の表面圧力は、反応過程を通じて変化させることもできる。たとえば、必要に応じて反応中は表面圧力を低く保ち、反応後に表面圧力を上げて膜の再圧縮を行う操作も、反応効率を上げる目的で実施することができる。

もう1つの方法は、固体基板上に既に被覆したホスト化合物の単分子膜あるいは累積膜に対し、基板をゲスト化合物を含む水溶液に浸漬することによつてゲスト化合物を固-液界面において反応させる方法である。本発明ではこれらの方法を適宜使いわけてよい。

本発明において、ホスト化合物の単分子膜ある

いは累積膜にゲスト化合物を化学結合させる際に、反応を促進させる目的で光あるいは熱などの電磁放射線のある時間照射してもよい。

本発明において、ゲスト化合物を水面上のホスト単分子膜と化学反応させる場合ならびに反応に先だつて単分子膜を基板上に被覆させる場合は、膜の表面圧力を任意の値に設定することができるが、好ましい表面圧力は、単分子膜が与える表面圧力 π (dyn/cm) と分子占有面積 ($\text{\AA}^2/\text{分子}$) の等温特性 (isotherm) において分子崩壊圧より低くかつ表面圧力立ち上りを開始する臨界圧力よりも十分に高い表面圧力の領域であり、すなわち、分子が十分に配向した領域である。

水面上の単分子膜を基板や支持体の表面上へ被覆するには、LB法を含める種々の累積方法を用いることができる。LB法については例えば、ジャーナル・オブ・アメリカン・ケミカル・ソサエティ (J. Am. Chem. Soc.) 第79巻、1007頁 (1957年)、ゲインズ (G. L. Gains, Jr) 著「インソルブル・モノレイヤー

ズ・アット・リキッド・ガス・インターフェイス」 (Insoluble Monolayers at Liquid-Gas Interfaces)」、(Interscience), New York (1966年)、あるいは福田清成著、材料技術、第4巻、261頁 (1986年) などに説明されている。被覆の方法としては、この他水平付着法、回転付着法 (例えば特開昭60-189929号、同61-42394号など) 等の様々な方法が適用される。累積膜は、単分子膜を基板上に被覆する操作を繰り返すことによつて得られる。特開昭60-209245号などに記載の連続式累積法を用いることもできる。この場合、本発明のホスト化合物の少なくとも一部は最外分子層に含有させることが好ましく、この層より基板に近い分子層は他の両親媒性有機分子 (界面活性型分子) で構成されていてもよい。

本発明の有機薄膜を構成する単分子膜形成化合物の一部は、互いに分子間で化学結合をもつていてもよく、また分子間で互いに重合してもよい。このような化合物間の化学結合は、単分子膜が水

面上に形成された状態で、熱や電磁放射線照射等によつて導入してもよいし、また基板に累積した後と同様な方法で導入してもよい。

本発明において、単分子膜または累積膜を移し取る際の支持体 (基板) としては、各種金属等の導電体、ガラス状無機物 (ガラス、石英など) やその他の無機絶縁体、各種の無機および有機の結晶、無機半導体 (SnO_2 、 In_2O_3 、 ZnO 、 TiO_2 、 WO_3 、 GaAs 、 Si など)、有機半導体、有機電導体、有機重合物、および上記材料の複合材料など各種の材料が用いられる。材料は外部の電気的回路に接続された電極やその他のセンサー (電界効果トランジスタなど) であつてもよい。材料の表面は、各種の物理的、化学的処理によつて親水性もしくは疎水性に処理することができる。疎水性処理として好ましい方法は、たとえばアルキルシラン誘導体をカップリング剤として基板表面に反応させる方法である。

本発明の薄膜材料の構造において、基板もしくは支持体材料の表面はそれと接触する有機物の累

積膜を構成する分子と化学的に結合していてもよい。このような結合は基板表面の反応基 (たとえば水酸基など) と累積膜構成分子の末端の反応基 (たとえば活性シランなど) と熱的に化学反応させることによつて達成できる。

本発明の反応活性化合物の単分子膜に結合させるゲスト化合物としては、種々の機能性有機化合物および有機金属化合物が挙げられる。これらはたとえば、色素、蛍光染料、酸化還元化合物、導電性化合物、光学活性物質、包接化合物、触媒、各種機能性ポリマーなどの合成物質の他に酵素、タンパク、抗原、抗体などの生理活性な天然物も挙げられる。中でも好ましいものの例は、酵素、抗原、抗体等の生体関連物質である。

酵素としては、具体的には、グルコースオキシダーゼ、アミノ酸オキシダーゼ、カタラーゼ、アスコルビン酸オキシダーゼ、キサンチンオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、グリセロールオキシダーゼ、グリセロール-3-リン酸オキシダーゼ、コリンオキシダーゼ、アシナルC o A

オキシダーゼ、アルデヒドオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、ザルコシンオキシダーゼ、ビルビン酸オキシダーゼ、乳酸オキシダーゼ、チロシナーゼ、ペルオキシダーゼのような酸化酵素、

ウリカーゼ、アルコールデヒドロゲナーゼ、グリセロールデヒドロゲナーゼ、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ、乳酸デヒドロゲナーゼ、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、ホルムアルデヒドデヒドロゲナーゼ、 β - α -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ、コレステロールデヒドロゲナーゼのような酸化還元酵素、

クレアチンキナーゼ、ビルビン酸キナーゼ、ヘキソキナーゼ、グリセロールキナーゼ、ミオキナーゼ、ウロキナーゼ、フラクトキナーゼなどの転移酵素、

ウレアーゼ、アスパラギナーゼ、アミラーゼ、リパーゼ、ホスホリパーゼ、ホスファターゼ、ラクターゼ、アルギナーゼ、エステラーゼ、トリプシン、キモトリプシン、ペクチナーゼ、ペニシリナーゼなどの加水分解酵素、

以下に実施例を掲げ、本発明を更に詳細に説明するが、実施態様はこれらに限定されるものではない。

〔実施例1〕

本発明の化合物2および化合物4を塩化メチレンに溶解し 10^{-3} M溶液とし、単分子膜製造用水槽に設けたpH7.4の 10^{-3} Mリン酸緩衝液上に展開して単分子膜を作製した。20°Cにおいてこれらの単分子膜の表面圧力-分子占有面積(\AA^2)特性を測定した結果を第1図に示す。

化合物2の単分子膜は化合物4と比較し表面圧力が不安定であつたがこれはアルキル鎖がより短かいことにより水溶性を有し配向性が乏しいことに由来すると考えられる。これらの膜はそれぞれLangmuir-Blodgett法によつてガラスやアルミニウム板などの親水性の基板の表面に被覆することができ、又、アルキル、シラノ化処理した疎水性ガラスあるいはシリコンウエハの表面に水平付着法によつて移し取ることができた。また、化合物2はステアリン酸メチルとモル比1:4の

クエン酸リアーゼ、デカルボキシラーゼ、フマルラーゼ、アスパルターゼなどのリアーゼ、グルコースフォスフエートイソメラーゼのような異性化酵素、

グルタチオンシンターゼ、ビルビン酸シンターゼのようなりガーゼなどをあげることができる。

また、抗原、抗体としては血清アルブミン、免疫グロブリン、梅毒抗体、絨毛性ゴナドトロピン、 α -フエトプロテインなどを含む多くの物質が挙げられ、これらは、山村雄一編「免疫の研究」(同文書院、1986年)に整理、記述されている。

本発明による薄膜は、その反応性を利用して薄膜表面に任意の機能性化合物、例えば、酵素、タンパク等を化学的に固定した後、これら機能性化合物が行う高効率の化学反応(触媒反応、光化学反応、酸化還元など)や物理変化(光学的変化、電気的变化、など)をセンサー画像形成、情報記録、エネルギー変換など様々の分野で利用することができ、極めて有用である。

混合単分子膜を作製する方法により、表面圧力の安定性を改善することができた。

〔実施例2〕

本発明の化合物6、化合物8、化合物10をそれぞれアラキジン酸メチルエステルとモル比1:4に混合して実施例1と同様の条件下で水面上に展開し、混合単分子膜を作製したところ、いずれも30 dyn/cm以上の表面圧力まで安定な単分子膜を形成した。これらの混合単分子膜はいずれも垂直法もしくは水平付着法によつてそれぞれ親水性基板および疎水性基板上に被覆比1.0~1.1で移し取ることができた。

〔実施例3〕

本発明の化合物6とステアリン酸メチルをそれぞれ0.3 mMと0.6 mM含むクロロホルム溶液をマルチチャンパー型円型トラフ内の1室に設けたpH6.0のリン酸緩衝液の1 mM水溶液上に展開して単分子膜を作製し、単分子膜を15 dyn/cmの表面圧力に圧縮した。この単分子膜を酵素としてグルコースオキシダーゼ(GOD)を

100mg/8含むpH8.5のホウ酸緩衝水溶液を消した室に移動させ、この水相上で約1時間25°Cで15dyn/cmの一定圧力で放置し、単分子膜上へのGOD分子の固定を行つた。この反応終了後、単分子膜をリンス用の水相の室を通過させた後、水平付着法によつてシリコンウエハの基板上に20dyn/cmの表面圧力下で30層累積を行つた。このようにして作製した累積膜のフーリエ変換赤外吸収スペクトルを透過法によつてシリコンウエハ上で測定したところ、GODのタンパクによる特性吸収(3400cm⁻¹、1650cm⁻¹、1540cm⁻¹、1400cm⁻¹など)がLB膜分子の強い吸収2920cm⁻¹などと共に検出され、膜上に酵素が固定されたことが確認された。

GODの活性を調べるために、グルコースを0.01M含むpH6.0の緩衝水溶液300cc中に基板を浸漬し30°Cのもとで酵素反応を行わせた。反応液に発色検定試薬としてペルオキシダーゼ(POD)とロイコ型色素(ABTS、ペーリンガー社製)の混合物を添加したところ、呈色反応

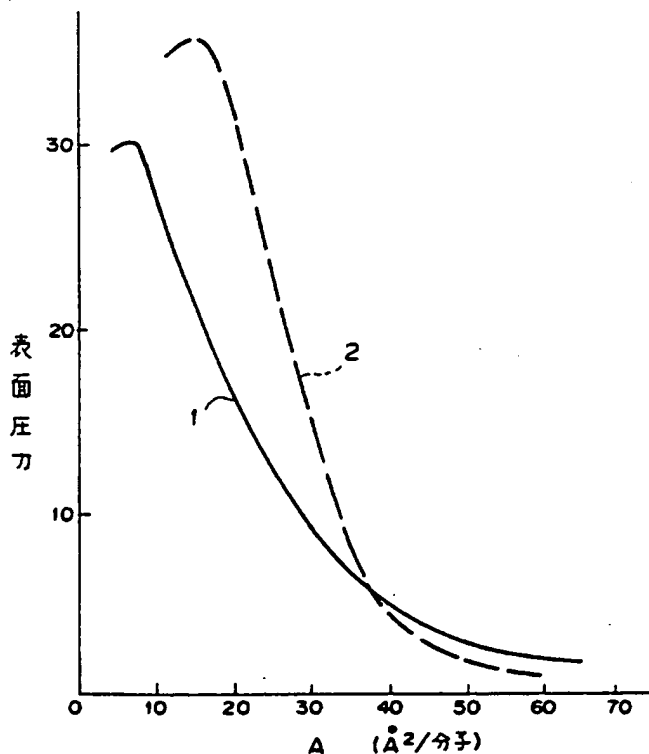
によりグルコースの酸化に伴う過酸化水素の生成が認められた。

4. 図面の簡単な説明

第1図は本発明の化合物2(曲線1)および本発明の化合物4(曲線2)の30°Cにおける分子占有面積—表面圧力の等温特性を示すグラフを要す。

特許出願人 富士写真フイルム株式会社

第1図



手続補正書

平成1年6月13日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示 平成1年特願第94670号
2. 発明の名称 機能性有機薄膜
3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住 所 神奈川県南足柄市中沼210番地
名 称(520)富士写真フイルム株式会社
代表者 大 西 實

連絡先 〒106 東京都港区西麻布2丁目26番30号

富士写真フイルム株式会社 東京本社
電話 (406) 2537

方式 査 査



4. 補正の対象 明細書の「特許請求の範囲」
の欄、「発明の詳細な説明」
の欄

5. 補正の内容

明細書の「特許請求の範囲」の項の記載を別紙
の通り補正する。

明細書の「発明の詳細な説明」の項の記載を下
記の通り補正する。

- 1) 第 8 頁下から 9 行目の

「アルキル基」の後に

「もしくはフルオロアルキル基」

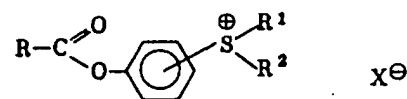
を挿入する。

別紙

特許請求の範囲

「 両親油性の有機分子から成る単分子膜もしくは
累積膜に於いて、該両親油性有機分子の少くとも
1 種が下記的一般式(1)で示される活性エステ
ル誘導体であることを特徴とする機能性有機薄膜。

(1)



(ここで、Rは炭素数13以上の脂肪族基を表わ
し、R¹、R²は同じでも異なつてもよくそれぞ
れアルキル基もしくはフルオロアルキル基を表わ
し、X⁻はアニオンを表わす。)